

磷脂酶 A₂ 与神经系统疾病

王昕昕 综述 梁宁生 审校

(广西医科大学附属肿瘤医院药剂科, 南宁 530021)

[摘要] 磷脂酶 A₂ 是一大类能催化水解磷脂特定酯键的酶,与哺乳动物神经系统存在密切的关系。磷脂酶 A₂ 在神经系统广泛表达,以海马最为丰富,在维持神经元的正常功能中起重要作用。在神经系统病理状态下,磷脂酶 A₂ 同工酶活性可增强或降低,引起不同程度的神经系统病变。一些磷脂酶 A₂ 抑制剂可能延缓病程的进展,达到治疗的目的。

[关键词] 磷脂酶 A₂; 神经系统; 神经系统疾病; 抑制剂

[中图分类号] Q54 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1673-2588(2008)02-0134-04

Phospholipase A₂ and nervous system diseases

WANG Xin-xin, LIANG Ning-sheng

(Department of Pharmacy, Affiliated Tumor Hospital, Guangxi Medical University, Nanning 530021, China)

[Abstract] Phospholipase A₂ (PLA₂) is a family of enzymes which catalyzes the hydrolysis of the special ester bond of phospholipids. The present studies indicate that there is close relationship between PLA₂ and mammalian nervous system. It expresses extensively in nervous system, particularly abundant in the hippocampus, and plays an important role in maintaining the normal functions of neurons. Under pathologic status in the nervous system, increased or decreased activities of various PLA₂ isozymes can evoke neuropathies in various extent. The researches indicate that some PLA₂ inhibitors can be used for the treatments of nervous system diseases.

[Key words] phospholipase A₂; nervous system; nervous system diseases; inhibitor

[Int J Pathol Clin Med, 2008,28(2):0134-04]

生命是由无数细胞组成的,在细胞中,细胞膜有超过40%的组成成分是磷脂;而在神经系统的细胞膜中,磷脂成分更是高达80%,对神经信息的传导和记忆具有不可替代的作用。因此,对催化水解磷脂的酶——磷脂酶 A₂ (Phospholipase A₂, PLA₂) 的研究,尤其是其在神经系统中的研究就显得越来越重要。PLA₂ 是一个大的酶家族,至少可分为20个亚型。依据酶结构、活性、亚细胞定位和细胞功能,哺乳动物来源的 PLA₂ 主要可分为,分泌型 (secretory PLA₂, sPLA₂)、胞浆型 (cytosolic PLA₂, cPLA₂)、非钙离子依赖型 (calcium-independent PLA₂, iPLA₂) 3型。每一型又可再分为不同的亚型。如 sPLA₂ 包括

14个亚型(I B, II A, II C, II D, II E, II F, III, V, X, XII型等),cPLA₂ 包括3个亚型(IV A, IV B, IV C型)或4个亚型(α, β, γ, δ型),iPLA₂ 包括3个亚型(VI A-1, VI A-2, VI B型)^[1]。在神经系统生理、病理状态下,PLA₂ 都发挥了不同的作用。

1 PLA₂ 在神经系统中的表达

1.1 啮齿类动物神经系统

1.1.1 大鼠 sPLA₂ 存在于大鼠脑部的整个区域,延髓、海马、大脑皮层含量最高;丘脑、下丘脑则最低。其中 I B, II E, V, X 型 sPLA₂ 表达于大脑和原代培养的神经元,最集中分布于大脑皮层和海马^[2-3]。V型 sPLA₂ 还出现在小脑 Bergmann 神经胶

收稿日期:2007-09-28 修回日期:2007-11-06

作者简介:王昕昕(1981-),女,山东潍坊人,硕士研究生,主要从事抗肿瘤药物及抗菌蛋白的研究。

基金项目:广西自然科学基金资助项目(桂科回0639026) This work was supported by Guangxi Natural Science Fund (0639026)

质细胞中^[4]。II A型 sPLA₂ 在脑干、中脑有很高的含量;在星形胶质细胞的原代培养中,也可被炎症因子诱导;另外,Shirai 等^[4]采用免疫印迹和原位杂交法在小脑中检测到其还存在于 Purkinje 细胞胞体核周区的内质网里。整个脑组织除了脑干、丘脑和小脑含量较低外,均高表达 II C型 sPLA₂。

cPLA₂ 也表达于整个脑组织,含量最高部位为脑干、海马、纹状体、中脑;而小脑含量较低。其中,α型 cPLA₂ 在灰质星形胶质细胞中占主导地位,也存在于海马神经元、Purkinje 细胞的树突和胞体。β型 cPLA₂ 表达于小脑颗粒细胞^[4];γ型 cPLA₂ 型则出现在内质网中;δ型 cPLA₂ 在神经系统还未发现有表达。

iPLA₂ 高表达于整个脑部,其中活性水平最高的区域为海马和纹状体。在小脑中,其主要存在于颗粒细胞、星形细胞及 Purkinje 细胞的神经核中^[4]。

在脊髓组织匀浆中, I B, II A, II C, IV A, V 和 VI 型 PLA₂ 都有表达,占主导地位的是 IV 和 VI 型 PLA₂^[5]。

1.1.2 小鼠 与大鼠正好相反,小鼠神经系统表达极少量的 PLA₂。通过 RT-PCR 技术,在大脑检测到 XII 型 sPLA₂ mRNA;向腹腔内注射 LPS,形成炎症反应体系后,可在脑部发现 II F 型 sPLA₂。此外,在因肌萎缩性脊髓侧索硬化而形成的慢性损伤模型中, Maria 等^[6]还发现 iPLA₂ 定位于脊髓星形胶质细胞。

1.2 猴类神经系统 目前对 PLA₂ 在猴神经系统中的分布研究仅限于非钙离子依赖型(iPLA₂)^[7]。端脑表达 iPLA₂,间脑几乎不表达,而中脑、前庭神经核、三叉神经核、橄榄下部和小脑皮质则高表达。电子显微镜下,iPLA₂ 存在于神经元的核被膜和树突、轴突末梢。

1.3 人类神经系统 免疫组织化学研究显示,大部分 α型 cPLA₂ 表达于灰质星形胶质细胞;β,γ型 cPLA₂ 均分布于整个脑组织。iPLA₂, XII 型 sPLA₂ 在人脑中也有表达,而 II D 型 sPLA₂ 则未见报道。

利用免疫印迹法,对人星形细胞瘤细胞株 1231N1 的研究结果显示其表达 cPLA₂;RT-PCR 技术显示 IV A, IV B, IV C, cPLA₂ 和 VI A 型 cPLA₂ 在此细胞株中都有表达,而 II A, II D, V 和 X 型 sPLA₂ 则无表达。

2 PLA₂ 在神经系统中的生理功能

在生理条件下,PLA₂ 同工酶对各种神经细胞活

动进行调节,如:磷脂更替、膜修复、长期增强效应、胞吐作用、生长、记忆、神经递质释放、调整正常脑功能的神经化学过程等。

2.1 sPLA₂ sPLA₂ 在细胞内合成,分泌到细胞外发挥作用,主要储存于突触小体和突触囊泡。脑 sPLA₂ 需要 Ca²⁺ 浓度在 mmol/L 水平来维持酶的活性,其表达可被致炎细胞因子(如 TNF-α, IL-1β)所诱导。刺激大鼠脑内突触小体或 PC12 细胞,通过乙酰胆碱、谷氨酸受体或电压依赖性钙通道(去极化)介导,引起 sPLA₂ 释放,说明 sPLA₂ 在神经元代谢方面发挥重要作用。药理学研究显示,神经元释放的 sPLA₂ 调整脱粒过程,释放神经递质;也可引起神经毒性,该酶与突触前膜结合,在小囊泡被质膜通过胞吞机制进入囊泡腔内,水解内部磷脂,改变膜成分,因此损伤其内吞作用。同时,sPLA₂ 的刺激还可诱导囊泡-囊泡聚合,在突触前神经传递中起关键作用。此外,在 PC12 细胞, Nakashima 等^[8]发现 sPLA₂ 还诱导轴突向外生长,起类似神经营养因子的作用。

2.2 cPLA₂ cPLA₂ 需要 mmol/L Ca²⁺ 介导其从胞质易位到核膜或其他细胞膜与膜结合,催化底物则不需 Ca²⁺^[9]。cPLA₂ 的 C 末端存在磷酸化位点和催化位点,这些位点的存在形式可决定 cPLA₂ 酶活性的高低。如 MAPK, PKC 可通过丝氨酸残基(催化位点),特别是 Ser-505 和 Ser-727 磷酸化激活 cPLA₂,使酶活性增高^[7]。α型 cPLA₂ 促使第二信使产生,发挥长期增强效应以加深记忆。γ型 cPLA₂ 含有异戊二烯基结合顺序,其作为脂质锚定位点可使 cPLA₂ 结合到膜表面,催化磷酸卵磷脂释放花生四烯酸(AA)。表达于内质网中的 γ型 cPLA₂ 还可介导膜重塑,在氧化应激下维持膜内磷脂组分。而 β型 cPLA₂ 则活性很低。在大鼠大脑皮层和海马神经元的原代培养中, Forlenza 等^[10]还发现,若 cPLA₂ 活性被抑制,会减少轴突的向外生长,降低其神经活性。

2.3 iPLA₂ 存在于细胞质中,分子量约 80 kD。BEL(一种不可逆的选择性 iPLA₂ 抑制剂)和 ATP 分别抑制、增强其活性。在大鼠海马,iPLA₂ 可协同 cPLA₂ 介导记忆过程中的突触可塑性,若 iPLA₂ 活性被抑制,会破坏短、长时记忆的获取^[11]。但是,在海马 CA1 锥体细胞中,iPLA₂ 被抑制却可选择性上调 α-氨基羟甲恶唑丙酸(AMPA)受体,介导突触后的神经传递^[12]。在大鼠小脑星形胶质细胞中,iPLA₂ 还可激活质膜上的 Ca²⁺ 通道,维持 Ca²⁺ 浓度

的稳定,以保证神经信号的正常转导^[13]。在猴脑, iPLA₂ 也介导神经元的信号传递^[7]。

PLA₂ 亚型之间的功能有相互作用和联系,如刺激机体, cPLA₂ 被激活,引起 AA 释放,进一步转化成类花生酸类物质, sPLA₂ 也同时被激活。在星形细胞瘤细胞株 1321N1 中,通过 MAPK 途径, sPLA₂ 和 cPLA₂ 共同调节 AA 的代谢。在细胞水平,钙动员、cPLA₂ 磷酸化和 sPLA₂ 的细胞外受体的相互作用和相互影响,加速类花生酸的生成。

3 PLA₂ 在神经系统疾病发生发展中的作用

在病理条件下, PLA₂ 活性增强可导致膜流动性、渗透性和离子稳态改变;自由脂肪酸释放增加;脂质过氧化物堆积。达到一定水平会引起神经细胞损伤、氧化应激和神经炎症,从而引发一系列神经系统疾病。

3.1 脑缺血 脑缺血由脑血流阻塞造成,可导致能量缺乏,引起一系列代谢改变,最终神经细胞死亡。其中最关键的代谢变化是脑组织中 cPLA₂ 被激活,释放大量的自由脂肪酸,激活 COX-2,造成 ATP 缺失、离子稳态改变、膜异常,进一步导致细胞损伤。cPLA₂ 激活机制还不清楚,可能是共价键改性,如磷酸化。近来, Adibhatla 等^[14-15] 发现,短暂局部脑缺血引起的脑部炎症反应,产生各种细胞因子(如 TNF- α , IL- α/β 等),这些细胞因子可上调 sPLA₂-II A 蛋白表达,进一步引起脂质代谢改变,诱导神经细胞凋亡。

3.2 阿尔茨海默病 阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是临床上最常见的一种神经变性疾病。在 AD 病情发展过程中,神经退行性变程度不断发生变化。其中,脑部炎症反应是影响病情变化的主要因素。AD 病人基底核、海马的 cPLA₂ 活性显著增高,磷脂代谢产物大量增加,导致神经细胞膜流动性、渗透性改变,还可引起离子稳态变化,如低钙离子内流产生轻度氧化应激,导致细胞凋亡性神经退行性变;钙超载产生重度氧化应激,导致细胞坏死性神经退行性变。海马、颞下回的 sPLA₂-II A 活性也显著增高,由炎症细胞因子诱导,引起神经细胞凋亡^[16]。然而,脑部 iPLA₂ 活性却是降低的,活性越低,认知缺损越严重,最终导致记忆缺陷^[11]。AD 出现临床症状前,先出现脑部膜磷脂、高能磷酸代谢变化说明磷脂代谢异常引起的信号转导异常可能是引起 AD 的一个重要原因。cPLA₂ 活性增高的确切原因还不清楚,可能有两个方面:(1)淀粉样蛋白 β (β -

amyloid, A β) 的累积,介导 Ca²⁺ 内流,激活 cPLA₂ 并将其从细胞质中转导至核膜。(2)星形胶质细胞和小胶质细胞的激活,产生多种细胞因子如 TNF- α , IL-1 β , IL-6 等,进而激活 cPLA₂。

3.3 多发性硬化症和实验性的自身免疫性脑脊髓炎 多发性硬化症(multiple sclerosis, MS)和实验性的自身免疫性脑脊髓炎(experimental autoimmune encephalomyelitis, EAE)是脑和脊髓的炎症脱髓鞘性疾病,引起运动、感觉障碍。MS 病人脑组织中 PLA₂ 活性显著增强。EAE 病情严重性程度与 cPLA₂ 活性及其下游因子(如 COX-2、白三烯 B4 受体 2 和细胞因子)密切相关。EAE 高表达 cPLA₂, 抑制该酶, EAE 起始阶段和进行阶段病情会明显减轻;同时, sPLA₂ 活性也显著增强。两者协同水解大量磷脂,释放 AA,进一步产生炎症介质 PGE₂,从而致痛觉增敏^[5,17]。

3.4 精神分裂症和抑郁症 精神分裂症病人脑组织中, iPLA₂ 活性显著增高,磷脂代谢加速,使得磷酸卵磷脂、脑磷脂水平明显下降。其具体机制还不清楚,可能与多巴胺、维甲酸代谢异常和体内细胞因子改变有关^[18]。相反, cPLA₂ 活性明显下降。抑郁症病人心境障碍与 cPLA₂ 基因的多态现象有潜在关系,病人基因分型、等位基因分布与正常人明显不同,故 cPLA₂ 基因多态性可能是抑郁症的发病原因^[19]。在大鼠前额皮质,慢性抗抑郁药就是通过增强 cPLA₂ mRNA 的稳定性,提高 cPLA₂ 转录后的基因表达而发挥抗抑郁作用^[20]。

4 PLA₂ 抑制剂在神经系统疾病治疗中的作用

PLA₂ 是 AA、溶血磷脂和血小板刺激因子产生的限速酶。这些代谢产物水平升高会引起损伤部位的氧化应激、炎症和神经细胞死亡。有效的 PLA₂ 抑制剂在神经退行性变过程中可有效阻止以上变化,避免细胞死亡。

4.1 cPLA₂ 抑制剂 盐酸阿的平,代谢稳定,能穿过血脑屏障到达神经元,抑制 cPLA₂ 活性,使得大鼠脑缺血神经退行性变的易感性显著降低,缩小缺血梗死面积^[1]。

胞磷胆碱,可呈时间依赖性、剂量依赖性抑制 cPLA₂ 活性,通过显著抑制磷脂水解,阻止自由脂肪酸释放,治疗局部缺血损伤;还可增强语言记忆,治疗 AD。目前,已应用于治疗脑缺血的 III 期临床试验。

神经节苷酯的神经营养性效应可用来治疗 AD、

脊髓损伤和脑缺血。机制还不完全清楚,现已知它抑制 cPLA₂ 活性和神经递质释放。NMR 研究显示,单唾液酸四己糖神经节苷脂钠(神经节苷酯类药)与 A β 结合,抑制 A β 的 α -螺旋异构为 β -折叠,进而抑制 cPLA₂ 活性,延缓 AD 的神经退行性变^[21]。

4.2 sPLA₂ 抑制剂 在大鼠皮层神经元的原代培养中, S-2474(一种新奇的非类固醇类抗炎药)、内皮素-3(内皮素受体激动剂)显著阻止神经元遭受由 sPLA₂-II A 诱导的细胞凋亡,如:染色质的浓集、DNA 的断裂^[15,22]。S-2474 通过抑制 sPLA₂-II A 产生有神经毒性的 PGD₂ 发挥治疗作用;而内皮素-3则是通过抑制 L 型电压依赖性钙通道,阻止钙内流,来抑制 sPLA₂-II A 活性。两者均直接影响神经元的存活,对神经起保护作用,具有治疗脑缺血、AD 的潜力。

综上所述,PLA₂ 与哺乳动物神经系统有密切的关系。PLA₂ 在神经系统中广泛存在,各亚型之间相互联系、相互影响,对神经细胞功能进行调节,以维持细胞稳态、功能稳定。PLA₂ 升高或降低都会引起不同的病理学改变,进而出现一系列神经系统疾病。因此,研究神经系统的 PLA₂ 以及以 PLA₂ 为靶标的药物意义重大。虽然已经合成了不少有价值的 PLA₂ 抑制剂,但进入临床应用的很少。由于其潜在的应用前景,因此进一步加大对 PLA₂ 及其抑制剂的研究力度就显得更为迫切。

参 考 文 献

- [1] Phillis JW, O' Regan MH. A potentially critical role of phospholipases in central nervous system ischemic, traumatic, and neurodegenerative disorders[J]. *Brain Res Rev*, 2004, 44(1): 13-47.
- [2] Kolko M, Christoffersen NR, Barreiro SG, et al. Characterization and location of secretory phospholipase A₂ groups IIE, V, and X in the rat brain[J]. *J Neurosci Res*, 2006, 83(5): 874-882.
- [3] Kolko M, Christoffersen NR, Varoqui H, et al. Expression and induction of secretory phospholipase A₂ group IB in brain[J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2005, 25(7): 1107-1122.
- [4] Shirai Y, Ito M. Specific differential expression of phospholipase A₂ subtypes in rat cerebellum[J]. *J Neurocytol*, 2004, 33(3): 297-307.
- [5] Lucas KK, Svensson CI, Hua XY, et al. Spinal phospholipase A₂ in inflammatory hyperalgesia; role of group IVA cPL A₂[J]. *Br J Pharmacol*, 2005, 144(7): 940-952.
- [6] Maria AB, Isabel VN, Karin KL, et al. Expression and function of phospholipase A₂ in brain[J]. *FEBS Lett*, 2002, 531(1): 12-17.
- [7] Wang G, Daniel BM, DeCoster MA. Role of nitric oxide in regulating secreted phospholipase A₂ release from astrocytes[J]. *Neuroreport*, 2005, 16(12): 1345-1350.
- [8] Nakashima S, Ikeno Y, Yokoyama T, et al. Secretory phospholipases A₂ induce neurite outgrowth in PC12 cells[J]. *Biochem J*, 2003, 376(3): 655-666.
- [9] Hirabayashi T, Murayama T, Shimizu T. Regulatory mechanism and physiological role of cytosolic phospholipase A₂[J]. *Biol Pharm Bull*, 2004, 27(8): 1168-1173.
- [10] Forlenza OV, Mendes CT, Marie SK, et al. Inhibition of phospholipase A₂ reduces neurite outgrowth and neuronal viability[J]. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 2007, 76(1): 47-55.
- [11] Schaeffer EL, Gattaz WF. Inhibition of calcium-independent phospholipase A₂ activity in rat hippocampus impairs acquisition of short- and long-term memory[J]. *Psychopharmacology (Berl)*, 2005, 181(2): 392-400.
- [12] St-Gelais F, Menard C, Congar P, et al. Postsynaptic injection of calcium-independent phospholipase A₂ inhibitors selectively increases AMPA receptor-mediated synaptic transmission[J]. *Hippocampus*, 2004, 14(3): 319-325.
- [13] Singaravelu K, Lohr C, Deitmer JW. Regulation of store-operated calcium entry by calcium-independent phospholipase A₂ in rat cerebellar astrocytes[J]. *J Neurosci*, 2006, 26(37): 9579-9592.
- [14] Adibhatla RM, Hatcher JF. Secretory phospholipase A₂ IIA is up-regulated by TNF-alpha and IL-1alpha/beta after transient focal cerebral ischemia in rat[J]. *Brain Res*, 2007, 1134(1): 199-205.
- [15] Yagami T, Ueda K, Hata S, et al. S-2474, a novel nonsteroidal anti-inflammatory drug, rescues cortical neurons from human group IIA secretory phospholipase A(2)-induced apoptosis[J]. *Neuropharmacology*, 2005, 49(2): 174-184.
- [16] Moses GS, Jensen MD, Lue LF, et al. Secretory PLA₂-IIA: a new inflammatory factor for Alzheimer's disease[J]. *J Neuroinflammation*, 2006, 3: 28-39.
- [17] Svensson CI, Lucas KK, Hua XY, et al. Spinal phospholipase A₂ in inflammatory hyperalgesia; role of the small, secretory phospholipase A₂[J]. *Neuroscience*, 2005, 133(2): 543-553.
- [18] Smesny S, Kinder D, Willhardt I, et al. Increased calcium-independent phospholipase A₂ activity in first but not in multiepisode chronic schizophrenia[J]. *Biol Psychiatry*, 2005, 57(4): 399-405.
- [19] Pae CU, Yu HS, Kim JJ, et al. BanI polymorphism of the cytosolic phospholipase A₂ gene and mood disorders in the Korean population[J]. *Neuropsychobiology*, 2004, 49(4): 185-188.
- [20] Rao JS, Ertley RN, Lee HJ, et al. Chronic fluoxetine upregulates activity, protein and mRNA levels of cytosolic phospholipase A₂ in rat frontal cortex[J]. *Pharmacogenomics J*, 2006, 6(6): 413-420.
- [21] Mandal PK, Pettegrew JW. Alzheimer's disease; NMR studies of asialo (GM1) and trisialo (GT1b) ganglioside interactions with A β (1-40) peptide in a membrane mimic environment[J]. *Neurochem Res*, 2004, 29(2): 447-453.
- [22] Yagami T, Ueda K, Sakaeda T, et al. Effects of an endothelin B receptor agonist on secretory phospholipase A₂-IIA-induced apoptosis in cortical neurons[J]. *Neuropharmacology*, 2005, 48(2): 291-300.